

描述: 该试剂盒采用经典的萃取法进行细菌、病毒 DNA/RNA 的核酸共提取，采用玻璃珠作为核酸结合基质，其高载量的吸附核酸分子。该试剂盒最大的特点是可以采用低转速、价格较低的掌式离心机即可对样本进行有效的核酸纯化和富集，因此特别适合于现场操作。其可以从多种类型样本中进行高质量的 DNA/RNA 共提取。样本类型不仅限于：动物组织、细胞、粪便、细菌、简单的植物样本，还适用于全血、血清、血浆、拭子液、各种冲洗液等液体样本。应用本试剂盒提取的 DNA/RNA 可直接用于 LAMP、RPA 等核酸扩增。

组分

组分	4T	50T
DNA/RNA11	0.25ml	3ml
DNA/RNA12	2.5ml	27 ml
氯仿替代物 B1	2.5ml	30 ml
玻璃珠	2.5ml	27ml
W2 Buffer	5 ml	55 ml
Nuclease Free H ₂ O	0.5 ml	6 ml

注意事项与准备工作:

- 1.1 氯仿替代物 B1 为管制品氯仿替代物(该溶液上层覆盖有水相，使用时吸取下层红色油相)，沸点>150℃，燃点>450℃，毒性低于氯仿，但操作仍建议于通风橱中进行。
- 1.2 玻璃珠溶液易沉淀，使用前旋涡（或吹打）混合均匀成牛珠状浆液，待用。
- 1.3 放置于室温，可保存 2 年。

病毒液的制备

- 2.1 组织样本（肉、粪便、饲料、植物叶片等）：50~150 mg，加入 0.5 ml 生理盐水研磨后，离心 1min，上清液作为病毒液，待用。
- 2.2 拭子：棉签蘸取口水、肛门、眼鼻口分泌物，将棉签放入到 0.5~1 ml 生理盐水溶液中，摇晃 10 次，上清液作为病毒液，待用。
- 2.3 尿液、痰液、胸腹水、胃冲洗液：直接取不含块状物液体即可。如有块状物，可短离心去除之。
- 2.4 抗凝全血、血清、血浆：用等体积的 ddH₂O 稀释 1 倍后待用。

操作方法

- 3.1 在 1.5 ml EP 管中，加入 250 μl 的上述病毒液，并加入 50 μl 的 DNA/RNA11 和 500 μl 的 DNA/RNA12（此时总体积为 800 μl）。旋涡 15s 混合均匀（或手腕用力摇晃），室温静置 1min 进行裂解。
- 3.2 裂解完毕后，加入 500 μl 的氯仿替代物 B1（注意：吸取下层红色有机相），旋涡混合 15s（或手腕用力摇晃）。
- 3.3 上述溶液置于离心机上(>1500G)，离心 1min。此时分为 3 层，上层(无色水相)、中间层(蛋白及组织碎片)、下层(红色有机相)。
- 3.4 吸取上层水相 550 μl 到新的 1.5ml EP 管中（注意不要吸入中间层白色物质）。并加入 500 μl 混合均匀后的玻璃珠浆液。盖上管盖，旋涡 15s 混合均匀（或上下颠倒混合 4~6 次）。
- 3.5 将 1.5 ml EP 管放入离心机中，离心 15s。倒掉上清液，留取底部玻璃珠沉淀，此时核酸已经吸附在玻璃珠上。
- 3.6 向玻璃珠沉淀加入 500 μl 的 W2 Buffer，吹打松散玻璃珠，并盖上管盖，上下颠倒混合 2~3 次，进行玻璃珠和管壁洗涤。放入离心机离心 1min，倒掉上清液，并重复此洗涤一次。
- 3.6 倒掉 1.5 ml EP 管中的 W2 Buffer，并重新放到离心机上，离心 1min。用 10 μl 的 Tip 头将管底部的残留 W2 Buffer 彻底吸取干净（务必吸取干净，否则造成后续洗脱效率下降）。
- 3.7 向玻璃珠沉淀中加入 60~100 μl 的 Nuclease Free H₂O，用 Tip 头吹打松散玻璃珠沉淀，此时 DNA/RNA 核酸分子被洗脱到水溶液中。离心 1min，上清液即为 DNA/RNA，可直接用于后续 LAMP 和 RPA 等现场扩增。